

# NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH NGUYÊN NHÂN GÂY RA HIỆN TƯỢNG CHẬM LỚN TRÊN TÔM CHÂN TRẮNG NUÔI NƯỚC LỢ

Đặng Thị Lụa<sup>1</sup>, Nguyễn Việt Khuê<sup>1</sup>, Đào Xuân Trường<sup>1</sup>

## TÓM TẮT

Trong những năm gần đây nghề nuôi tôm nước lợ ở nước ta đã và đang gặp phải hiện tượng tôm chậm lớn và còi cọc. Tôm chậm lớn thường có biểu hiện phát triển bình thường trong tháng nuôi đầu tiên nhưng sau đó tôm vẫn ăn mà không lớn. Tôm chân trắng chậm lớn sau 70-80 ngày nuôi kích cỡ ước tính chỉ đạt 200 - 250 con/kg, cá biệt có trường hợp tôm chỉ đạt kích cỡ khoảng 400 con/kg. Kết quả sử dụng kỹ thuật PCR nhận biết tác nhân vi bào tử trùng EHP và kỹ thuật phân tích mô học xác định sự có mặt của tác nhân vi rút MBV và HPV đã phát hiện thấy vi rút HPV trên các mẫu tôm chậm lớn, không phát hiện thấy sự có mặt của MBV và EHP. Kết quả nghiên cứu này đã bước đầu nhận định nguyên nhân dẫn tới hiện tượng tôm chân trắng chậm lớn ở nước ta có liên quan tới vi rút HPV, tuy nhiên để có kết luận về nguyên nhân gây hiện tượng tôm nuôi chậm lớn cần tiếp tục các nghiên cứu sâu và toàn diện hơn.

**Từ khóa:** EHP, *Enterocytozoon hepatopenaei*, HPV, MBV, tôm còi, tôm chậm lớn, tôm nước lợ.

## 1. MỞ ĐẦU

Nghề nuôi tôm nước lợ ngày càng chiếm vị trí quan trọng trong ngành nuôi trồng thủy sản cũng như đổi mới nền kinh tế quốc dân. Năm 2015, sản lượng nuôi trồng thủy sản của cả nước đạt 3.516 nghìn tấn và kim ngạch xuất khẩu thủy sản đạt 6,7 tỷ USD, trong đó xuất khẩu tôm giữ ngôi vị số 1 với tỷ trọng giá trị xuất khẩu chiếm 44% (VASEP, 2015). Tuy nhiên, sản lượng tôm nuôi nước lợ tương đối bấp bênh. Năm 2015, sản lượng tôm nuôi nước lợ đạt khoảng 593.800 tấn, giảm khoảng 10% so với cùng kỳ năm 2014 (Tổng cục Thủy sản, 2015). Một trong những nguyên nhân ảnh hưởng nghiêm trọng đến sản lượng tôm nuôi đó là vấn đề dịch bệnh. Nổi bật lên mấy năm gần đây là dịch bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND) (Leaño và Mohan, 2012; FAO, 2013), dịch bệnh đốm trắng (Cục Thú y, 2014) và hiện tượng tôm còi, tôm chậm lớn.

Ở Việt Nam, trong những năm gần đây hiện tượng tôm chậm lớn được ghi nhận ở nhiều ao nuôi tôm thâm canh, bán thâm canh và kể cả quảng canh cải tiến. Tôm chậm lớn thường có biểu hiện vẫn ăn và phát triển bình thường trong tháng nuôi đầu tiên nhưng sau đó tôm thường giảm ăn hoặc vẫn ăn nhưng không thấy lớn. Đối với tôm chân trắng, sau 70 - 80 ngày nuôi, tôm chỉ đạt kích cỡ 200 - 250 con/kg, thậm chí có thường hợp chỉ đạt khoảng 400

con/kg, trong khi đó bình thường với khoảng thời gian nuôi này tôm đạt kích cỡ thu hoạch. Nguyên nhân tôm chậm lớn thường được cho là có liên quan tới một số tác nhân gây bệnh như vi rút MBV (*Monodon Baculovirus*), HPV (*Hepatopancreatic Parvovirus*) và đặc biệt là sự liên quan tới vi bào tử trùng EHP (*Enterocytozoon Hepatopenaei*) (Thành Công, 2015).

Nghiên cứu này được thực hiện để tầm soát sự có mặt của vi bào tử trùng EHP, MBV và HPV trên tôm chân trắng nuôi chậm lớn.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu và địa điểm nghiên cứu

Mẫu tôm dùng cho phân tích PCR và mô học được thu định kỳ tại một số ao nuôi tôm chân trắng thâm canh tại Hải Hòa (Móng Cái, Quảng Ninh) và Quỳnh Bảng (Quỳnh Lưu, Nghệ An) trong suốt vụ nuôi chính từ tháng 4 đến tháng 7 năm 2015. Phân tích mẫu được thực hiện tại phòng thí nghiệm bệnh động vật thủy sản, Trung tâm Quan trắc môi trường và Bệnh thủy sản miền Bắc, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 1.

### 2.2. Kỹ thuật PCR phát hiện vi bào tử trùng EHP

Gan tụy tôm thẻ chân trắng được thu định kỳ với tần suất 2 lần/tháng tại 12 ao nuôi tôm thâm canh thuộc vùng nuôi tôm tập trung ở Hải Hòa và Quỳnh Bảng. Tiến hành 5 đợt thu mẫu tại mỗi ao nuôi, mỗi đợt thu từ 4 đến 7 mẫu tôm. Gan tụy tôm được cố

<sup>1</sup> Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 1

định trong dung dịch cồn 96° để tách chiết ADN dùng cho kỹ thuật PCR. ADN được tách chiết theo phương pháp được miêu tả bởi Sambrook và Russell (2001), phản ứng PCR được thực hiện với cặp mồi EN779F: CAGCAGGCGCGAAAATTGTCCA và EN779R: CAGCAGGCGCGAAAATTGTCCA (Tangprasittipap và ctv, 2013) để nhận biết sự có mặt của vi bào tử trùng EHP. Chu kỳ nhiệt của phản ứng PCR được áp dụng như sau: giai đoạn tiền biến tính ở 94°C trong 2 phút, theo sau với 30 chu kỳ nhiệt gồm giai đoạn biến tính trong 30 giây ở 94°C, giai đoạn bắt cặp trong 30 giây ở 55°C và giai đoạn tổng hợp trong 90 giây ở 72°C và kết thúc với một giai đoạn kéo dài trong 2 phút ở 72°C. Sản phẩm PCR được điện di trên thạch agarosa 1% trong dung dịch 1X TAE và đọc kết quả dưới ánh sáng đèn UV, kích thước đoạn gien được khuếch đại khoảng 779 bp.

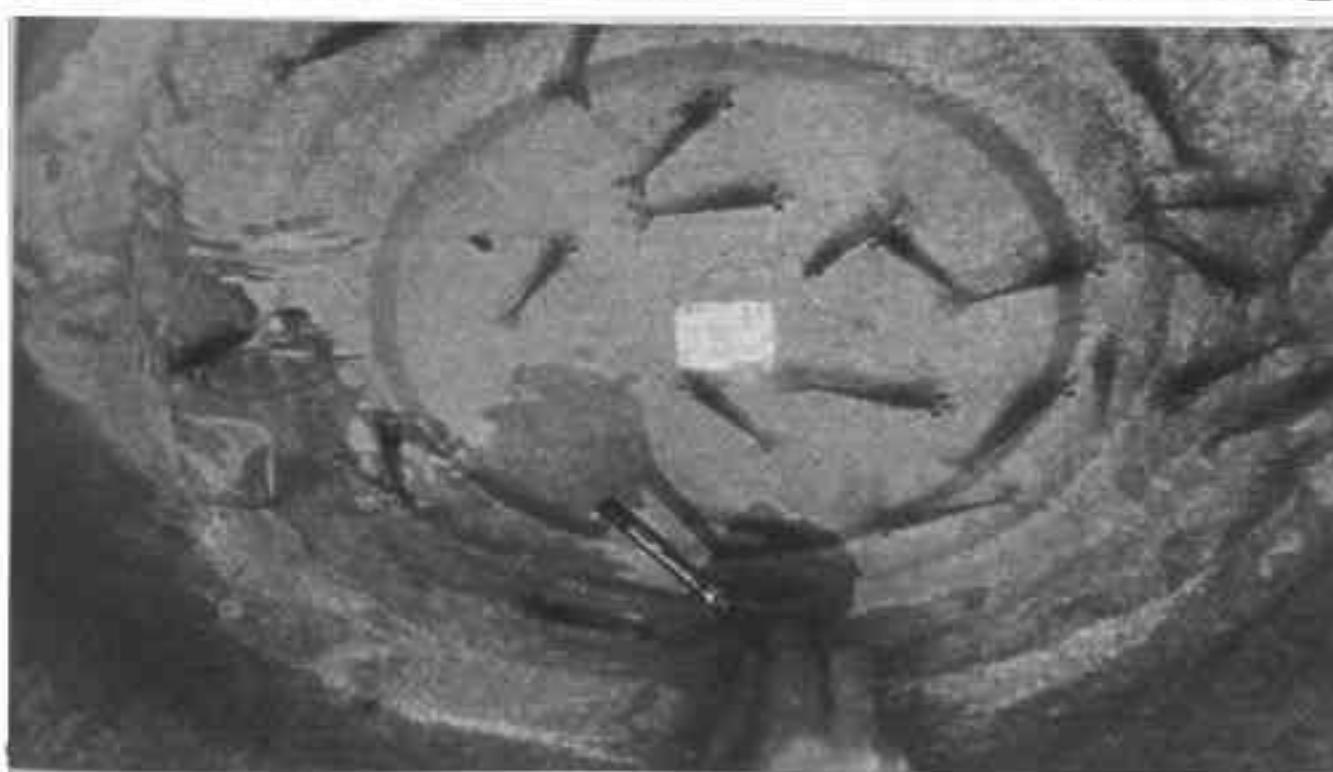
### 2.3. Kỹ thuật mô bệnh học nhận biết vi rút MBV, HPV

Gan tụy tôm chân trắng được thu từ những ao tôm có biểu hiệu còi chậm lớn và cố định trong dung dịch Davision. Sau ít nhất 24 giờ cố định, mẫu gan tụy được xử lý làm mất nước bằng cồn,

**Bảng 1. Diện tích, mật độ, thời gian nuôi, kích cỡ tôm nuôi ở các ao tại Quỳnh Bảng có hiện tượng tôm chậm lớn**

Ao giám sát	Địa điểm	Diện tích (m <sup>2</sup> )	Mật độ nuôi (con/m <sup>2</sup> )	Thời gian nuôi (ngày)	Kích cỡ tôm (con/kg)
A1.1_NA	Quỳnh Bảng - Quỳnh Lưu	4.000	100	60	200
A1.2_NA	Quỳnh Bảng - Quỳnh Lưu	2.000	90-100	50	90
A2_NA	Quỳnh Bảng - Quỳnh Lưu	4.000	100	80	120
A3_NA	Quỳnh Bảng - Quỳnh Lưu	2.000	100	70	230
A8.1_NA	Quỳnh Bảng - Quỳnh Lưu	5.000	100	40	250
A8.2_NA	Quỳnh Bảng - Quỳnh Lưu	5.000	100	70	140
NA_DX	Quỳnh Bảng - Quỳnh Lưu	4.000	110-120	80	410

(Ghi chú: NA\_DX là ao thu mua đột xuất trong vụ 2 tại Nghệ An)



**Hình 1. Kích cỡ tôm chân trắng sau 80 ngày thả nuôi thu tại ao NA-DX**

dimetylbenzen, thâm và đúc mẫu bằng parafin. Mẫu cố định trong parafin được cắt bằng máy microtome với lát dày 4-5 µm, sau đó nhuộm Haematoxylin & Eosin (H&E) theo phương pháp của Lightner (1996). Tiêu bản mô học nhuộm H&E được quan sát dưới kính hiển vi để nhận biết sự có mặt của tác nhân vi rút MBV và HPV liên quan đến bệnh còi trên tôm.

### 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Hiện tượng còi, chậm lớn trên tôm nuôi nước lợ

Qua quá trình theo dõi, giám sát chủ động tình hình dịch bệnh trên tôm chân trắng nuôi trong vụ nuôi chính từ tháng 4 đến tháng 7 năm 2015 tại Hải Hòa (Quảng Ninh) và Quỳnh Bảng (Nghệ An), nhận thấy tôm chân trắng nuôi tại Hải Hòa gặp phải dịch bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND) (số liệu không được trình bày), trong khi đó tôm nuôi tại Quỳnh Bảng lại đối mặt với hiện tượng tôm còi, tôm chậm lớn (Bảng 1). Tại Quỳnh Bảng ở vụ nuôi thứ 2 năm 2015 một số hộ nuôi tôm cũng gặp phải hiện tượng tôm chậm lớn trầm trọng (Bảng 1, hình 1).

**Bảng 1. Diện tích, mật độ, thời gian nuôi, kích cỡ tôm nuôi ở các ao tại Quỳnh Bảng có hiện tượng tôm chậm lớn**

Đối với tôm chân trắng có tốc độ tăng trưởng bình thường thì thông thường sau 80 - 90 ngày nuôi tôm đạt kích cỡ thu hoạch 60 - 90 con/kg. Tuy nhiên, tôm nuôi ở các ao giám sát tại Quỳnh Bảng đều đạt kích cỡ > 100 con/kg trong thời gian nuôi 60-80 ngày, đặc biệt có trường hợp ao NA - DX (Bảng 1), tốc độ tôm chậm lớn 5 - 7 lần so với tốc độ tăng trưởng bình thường.

**3.2. Kết quả PCR nhận biết vi bào tử trùng EHP trên tôm chân trắng có hiện tượng còi, chậm lớn**

Kết quả phân tích PCR của 332 mẫu tôm thu từ 5 đợt của 12 ao nuôi tôm tại Hải Hòa và Quỳnh Bảng (Bảng 2) đều âm tính với mầm bệnh EHP. Trong khi đó, các ao nuôi tôm thẻ được thu mẫu giám sát ở

Nghệ An có hiện tượng chậm lớn (Bảng 1). Kết quả phân tích PCR này cho thấy không có sự hiện diện của EHP trên tôm chân trắng nuôi bao gồm cả tôm có hiện tượng chậm lớn.

**Bảng 2. Kết quả PCR nhận biết tác nhân EHP trên tôm chân trắng nuôi có hiện tượng chậm lớn**

Ao thu mẫu	Các đợt phân tích EHP					Số mẫu phân tích/ao
	Đợt 1	Đợt 2	Đợt 3	Đợt 4	Đợt 5	
A1.1_NA	-	-	-	-	-	25
A1.2_NA	-	-	-	-	-	30
A2_NA	-	-	-	-	-	25
A3_NA	-	-	-	-	-	35
A8.1_NA	-	-	-	-	-	20
A8.2_NA	-	-	-	-	-	25
A1.1_QN	-	-	-	-	-	35
A2.1_QN	-	-	-	-	-	35
A1.2_QN	-	-	-	-	-	22
A2.1_QN	-	-	-	-	-	21
A3_QN	-	-	-	-	-	25
A4_QN	-	-	-	-	-	31
Tổng số mẫu phân tích						332

(Ghi chú: (NA) Nghệ An; (QN) Quảng Ninh; (-) Âm tính với EHP)

EHP ký sinh trong tế bào gan tuy tôm, sử dụng dinh dưỡng, năng lượng dự trữ trong gan tuy tôm, khiến tôm nuôi không đủ dinh dưỡng cho tăng trưởng và lột xác, dẫn tới hiện tượng tôm còi và chậm lớn. Kết quả PCR không phát hiện thấy sự có mặt của EHP trong các mẫu tôm kiểm tra (Bảng 2) có thể có hai khả năng. Khả năng thứ nhất là EHP không liên quan tới hiện tượng tôm chậm lớn trong nghiên cứu này do đó không có mầm bệnh EHP trong mẫu tôm kiểm tra dẫn tới kết quả PCR âm tính. Khả năng thứ hai là cặp mồi nhận biết EHP thiết kế bởi Tangprasittipap và cộng sự (2013) được sử dụng trong nghiên cứu này có thể không đặc hiệu đối với chủng vi bào tử trùng gây bệnh tôm còi, chậm lớn ở nước ta, dẫn tới hiện tượng âm tính giả của kết quả PCR. Đây là một trong số các hạn chế của kỹ thuật PCR sử dụng cặp mồi đặc hiệu. Tuy nhiên, kết quả mới được công bố gần đây của nhóm tác giả Rajendran và cộng sự (2016) khi nghiên cứu về EHP trên tôm chân trắng nuôi ở Ấn Độ phát hiện thấy tỷ lệ nhiễm EHP ở tôm thẻ chân trắng có biểu hiện còi, chậm lớn khoảng 58,5%, trong khi đó tỷ lệ nhiễm EHP trên tôm chân trắng phát triển bình thường lên tới 80,8%. Kết quả này cũng bước đầu nhận định EHP chưa hẳn đã liên quan tới hiện tượng tôm còi, tôm chậm lớn (Rajendran và ctv, 2016). Như vậy, có thể

nói kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự với kết quả của Rajendran và cộng sự (2016) và để kết luận liệu EHP có liên quan tới hiện tượng tôm còi, chậm lớn ở nước ta mấy năm gần đây hay không cần thiết phải có những nghiên cứu sâu hơn nữa.

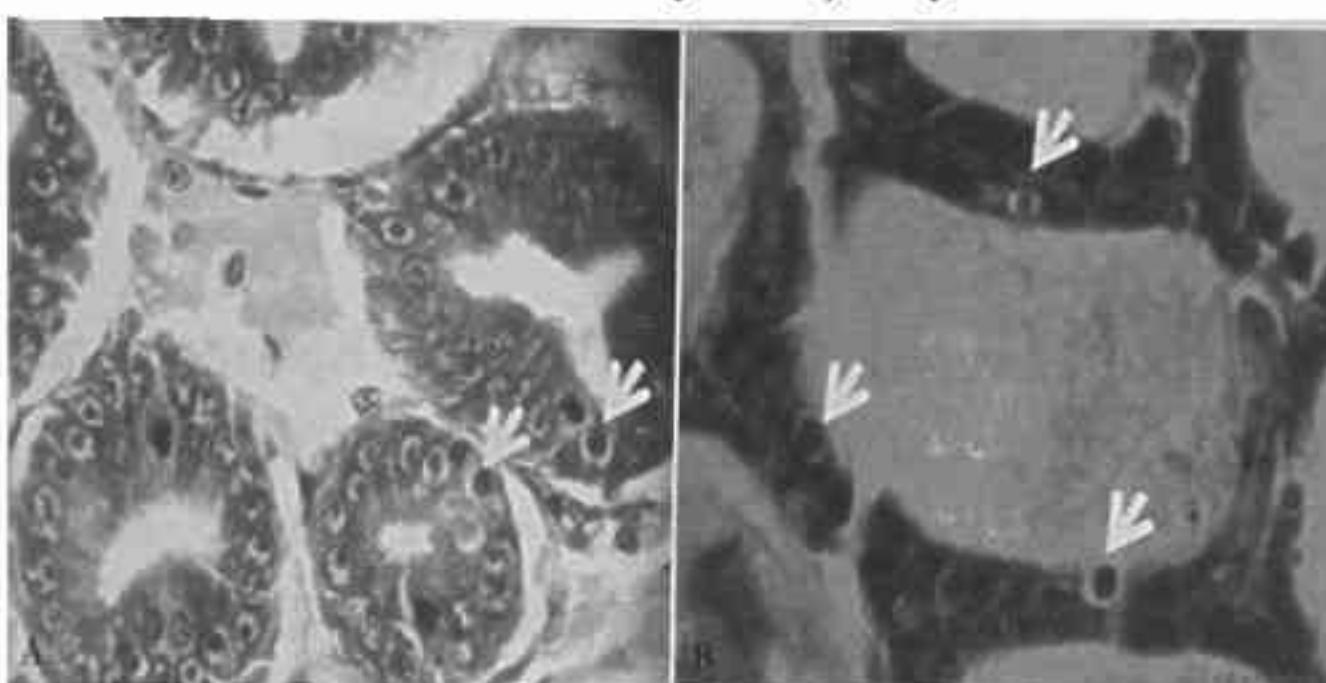
### 3.3. Kết quả phân tích mô bệnh học

**Bảng 3. Kết quả phân tích mô học xác định sự có mặt của vi rút MBV và HPV trên tôm chân trắng có hiện tượng còi, chậm lớn**

Ao thu mẫu	Số mẫu phân tích mô học	MBV	HPV
A1.1_NA	20	-	-
A1.2_NA	20	-	-
A2_NA	20	-	+
A3_NA	20	-	-
A8.1_NA	20	-	+
A8.2_NA	20	-	+
NA_DX	20	-	+

Kết quả phân tích mô học không phát hiện thấy sự có mặt của MBV (Bảng 3) nhưng phát hiện thấy sự có mặt của HPV trong gan tuy của tôm thẻ chân trắng có hiện tượng còi, chậm lớn (Bảng 3, hình 2). Như vậy liên quan đến tác nhân gây bệnh tôm còi, chậm lớn không phát hiện thấy sự có mặt của tác nhân EHP (Bảng 2) và tác nhân MBV (Bảng 3) mà chỉ phát hiện

thấy duy nhất sự có mặt của tác nhân HPV (Bảng 3, hình 2) trên tôm có biểu hiện còi, chậm lớn.



**Hình 2. HPV (mũi tên trắng) ký sinh trong gan tụy tôm chân trắng thu tại Nghệ An (X 100)**

Cơ quan đích của vi rút HPV là khối gan tụy của tôm. Dấu hiệu mô học đặc thù của HPV được thể hiện dưới dạng một thể vùi trong nhân tế bào gan tụy phình to. Thời kỳ đầu thể vùi này nằm ở trung tâm của nhân sau đó lớn dần lên có dạng hình cầu hoặc hơi bầu dục và choán gần hết nhân (Hình 2A, B). Bệnh tôm còi hay tôm chậm lớn gây ra bởi tác nhân vi rút HPV đã được thông báo trên tôm he Nhật Bản (*Penaeus japonicus*) nuôi tại Queensland, Australia (Paynter và ctv, 1985), tiếp theo được thông báo tìm thấy trên tôm sú tại Thái Lan vào năm 1992. Sau đó bệnh được thông báo từ nhiều nước và vùng lãnh thổ như Trung Quốc, Hàn Quốc, Đài Loan, Philippin, Indonesia, Malaysia, Singapore, Kenya, Israel và Ấn Độ (Safeena và ctv., 2012). HPV được xem là bệnh đặc trưng của tôm nuôi châu Á, bởi vì không những nó được phát hiện đầu tiên ở châu Á mà những công bố về nghiên cứu HPV sau này đều xuất phát từ tôm nuôi châu Á- Thái Bình Dương. Ở Việt Nam, HPV đã được phát hiện thấy trên tôm thẻ *P. merguiensis* nuôi tại Cà Mau và Sóc Trăng, trên tôm sú nuôi chậm lớn tại Nghệ An và thậm chí trên tôm sú Postlarvae tại Quảng Ngãi (Bùi Quang Tè, 2003). Gần đây hiện tượng bội nhiễm HPV cũng phát hiện thấy trên các mẫu tôm bị mắc bệnh hoại tử gan tụy cấp AHPND (Phan Thị Vân và ctv, 2012).

Theo Lightner và Redman (1998), HPV gây ra bệnh còi cọc, sinh trưởng chậm ở tôm là chủ yếu chứ không phải là nguyên nhân gây chết tôm hàng loạt. Kết quả phát hiện thấy HPV trong các mẫu tôm có biểu hiện còi, chậm lớn của chúng tôi trong nghiên cứu này là hoàn toàn phù hợp với nhận định của Lightner và Redman (1998) cũng như các nghiên cứu trước đây liên quan tới bệnh tôm còi, tôm chậm lớn do HPV (Paynter và ctv, 1985; Safeena và ctv., 2012). Như vậy, kết quả nghiên cứu này cho thấy rất có thể

HPV mới liên quan đến hiện tượng tôm còi, tôm chậm lớn ở nước ta mấy năm gần đây tuy nhiên nhận định này cũng cần được nghiên cứu sâu hơn với số lượng mẫu nhiều hơn và đại diện ở nhiều vùng nuôi tôm tập trung khác nhau. Đồng thời nghiên cứu tiếp theo cũng cần được thực hiện theo phương pháp nghiên cứu loại trừ tác nhân dựa trên việc phân tích 2 nhóm tôm, bao gồm nhóm tôm phát triển bình thường và nhóm tôm có biểu hiện còi, chậm lớn để đưa ra kết luận chính xác là nguyên nhân gây ra hiện tượng tôm còi, chậm lớn ở nước ta.

#### 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Không phát hiện thấy mầm bệnh EHP và MBV, nhưng phát hiện thấy sự có mặt của HPV ở tôm chân trắng có hiện tượng còi, chậm lớn nuôi ở nước ta.

HPV có thể là nguyên nhân gây ra hiện tượng còi, chậm lớn ở tôm chân trắng nuôi ở nước ta, tuy nhiên cần tiếp tục được nghiên cứu sâu hơn để có kết luận về nguyên nhân dẫn tới hiện tượng chậm lớn trên tôm nuôi nước lợ.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cục Thú y (2014). Tổng kết nuôi tôm nước lợ năm 2014 và xây dựng kế hoạch năm 2015. Bến Tre, ngày 4/11/2014.
2. Tổng cục Thủy sản, 2015. Sản lượng tăng, nhưng nuôi trồng vẫn gặp khó. <http://thoibaotaichinhvietnam.vn/pages/kinh-doanh/2015-12-29/nganh-thuy-san-2015-san-luong-tang-nhung-nuoi-trong-van-gap-kho-27411.aspx>.
3. Bùi Quang Tè (2003). Bệnh của tôm nuôi và biện pháp phòng trị. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội, 2003: 200 trang.
4. Thành Công (2015). Nguyên nhân tôm nuôi chậm lớn... <http://thuysanvietnam.com.vn/nguyen-nhan-tom-nuoi-cham-lon-article-11807.tsvn>.
5. VASEP, 2015. <http://www.fistenet.gov.vn/f-thuong-mai-thuy-san/a-xuat-nhap-khau/tong-ket-xuat-khau-thuy-san-viet-nam-2015/>.
6. Phan Thị Vân, Đặng Thị Lụa, Bùi Đắc Thuyết, Nguyễn Thị Nguyên, Lê Thị Mây, Phạm Thị Yến, Đào Xuân Trường, Nguyễn Thị Thu Phương, Trần Thị Hằng và Trần Văn Dũng (2012). Nguyên nhân xác định nguyên nhân gây bệnh hoại tử gan tụy trên tôm tại phía Bắc. Báo cáo tổng kết nhiệm vụ khẩn cấp cấp Bộ.

7. FAO (2013). Report of the FAO/MARD Technical Workshop on Early Mortality Syndrome (EMS) or Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome (AHPND) of Cultured Shrimp (under TCP/VIE/3304) Retrieved from Hanoi, Vietnam.
8. Leano, E. M., and Mohan, C. V. (2012). Early mortality syndrome threatens Asia's shrimp farms. Global Aquaculture Advocate: 38 - 39.
9. Lightner, D. V. (1996). A Handbook of Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases for Penaeid Shrimp. Tucson, AZ: Department of Veterinary Science, University of Arizona.
10. Lightner, D. V., and Redman, R. M. (1998). Shrimp diseases and current diagnostic methods. Aquaculture 164: 201-220.
11. Paynter, J., Lightner, D., and Lester, R. (1985). Prawn virus from juvenile *Penaeus esculentus*. Paper presented at the Second Australian National Prawn Seminar.
12. Rajendran, K. V., Shivam, S., Praveena, P. E., Rajan, J. J. S., Kumar, T. S., Avunje, S., Jagadeesan,
- V., Babu, S. V. A. N. V. P., Pande, A., Krishnan, A. N., Alavandi, S. V., and Vijayan, K. K. (2016). Emergence of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) in farmed *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* in India. Aquaculture 454: 272-280.
13. Safeena, M. P., Rai, P., and Karunasagar, I. (2012). Molecular Biology and Epidemiology of Hepatopancreatic parvovirus of Penaeid Shrimp. Indian journal of virology: an official organ of Indian Virological Society, 23(2), 191-202. doi:10.1007/s13337-012-0080-5.
14. Sambrook, J., and Russell, D. W. (2001). Molecular cloning: a laboratory manual. 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, NY.
15. Tangprasittipap, A., Srisala, J., Chouwdee, S., Somboon, M., Chuchird, N., Limsuwan, C., Srisuvan, T., Flegel, T. W., and Sritunyalucknasa, K. (2013). The microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* is not the cause of white feces syndrome in whiteleg shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*. BMC Veterinary Research 9: 139-149.

## STUDIES ON THE CAUSE OF SLOW GROWTH PHENOMENON IN WHITELEG SHRIMP CULTURED IN BRACKISH WATER SYSTEM

Dang Thi Lua, Nguyen Viet Khue, Dao Xuan Truong

### Summary

Brackish water shrimp farming industry of Vietnam has been experiencing stunted and slow growth phenomenon. Cause of the phenomenon is not identified. Shrimp often have normal development in the first month, but they will not bigger in the next months even though they are still eating. Slow-growing white shrimp reach only an estimated size of 200 – 250 shrimps per kg after 70 – 80 days of culture, a particular case, size is only 400 shrimps per kg. Using PCR to identify EHP and histopathology to determine the presence of MBV and HPV on slow growth shrimp samples, the results found the presence of HPV and did not find MBV and EHP on the tested samples. These results initially identified the cause of the slow growth phenomenon of white leg shrimp in Vietnam related to the HPV virus, however, this finding should continue to be studied further.

**Keywords:** EHP, *Enterocytozoon hepatopenaei*, HPV, MBV, stunted shrimp, slow growth shrimp, brackish water shrimp.

**Người phản biện:** TS. Phạm Anh Tuấn

**Ngày nhận bài:** 4/02/2016

**Ngày thông qua phản biện:** 4/3/2016

**Ngày duyệt đăng:** 11/3/2016